

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-172211

(43)公開日 平成6年(1994)6月21日

(51)Int.Cl.<sup>5</sup>  
A 61 K 37/64

識別記号 AAM  
府内整理番号 8314-4C

F I

技術表示箇所

審査請求 未請求 請求項の数3(全8頁)

(21)出願番号 特願平5-201519

(22)出願日 平成5年(1993)8月13日

(31)優先権主張番号 930647

(32)優先日 1992年8月14日

(33)優先権主張国 米国(US)

(71)出願人 593140521

ザ・マクリーン・ホスピタル・コーポレイ  
ション

The McLean Hospital  
Corporation

アメリカ合衆国02178マサチューセッツ州  
ペルモント、ミル・ストリート115番

(72)発明者 斎藤 健一

神奈川県横浜市緑区桜台3 三菱化成アバ  
ートA-404

(74)代理人 弁理士 青山 葵 (外1名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 アルツハイマー病の予防、治療薬

(57)【要約】

【目的】 アルツハイマー病の予防、治療薬を提供す  
る。

【構成】 カルパインに対し阻害作用を有する物質はア  
ルツハイマー病の予防、治療薬として有用である。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】カルパインに対し阻害作用を有する物質を有効成分とするアルツハイマー病の予防または治療薬。

【請求項2】カルパインに対し阻害作用を有する物質および薬学的に許容される担体を含有してなることを特徴とするアルツハイマー病の予防または治療のための医薬組成物。

【請求項3】カルパインに対し阻害作用を有する物質を用いてアルツハイマー病を予防または治療する方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【産業上の利用分野】

【0001】本発明は、アルツハイマー病の予防または治療薬に関し、詳細にはカルパイン阻害剤を用いたアルツハイマー病の予防または治療薬、医薬組成物、その方法に関する。

## 【従来の技術および発明が解決しようとする課題】

【0002】アルツハイマー病は初老期(45~65才)に発病する進行性の痴呆で、病理学的にはその脳内に多数の老人斑と神経原線維変化が認められる。65才以上の老年期に発症するいわゆる自然老化による老年痴呆も、病理学的に何ら本質的な差は認められないので、アルツハイマー型老年痴呆と呼ばれている。この疾患の患者数は、高齢者人口の増加とともに増え、社会的に重要な疾患となっている。しかしこの疾患の原因は諸説あるものの結果的にはまだ不明であり、早期解明が望まれている。

【0003】アルツハイマー病およびアルツハイマー型老年痴呆(以下、両者をまとめて「アルツハイマー病」と略す)に特徴的な二つの病理変化の出現量は、知能障害の程度とよく相関することが知られている。そこで、この二つの病理変化を生ずる不溶性の蓄積物質を分子レベルで解明し、この疾患の病因に到達しようという研究が1980年代の前半頃から行われてきた。

【0004】神経細胞の死によるシナプス消失は、アルツハイマー病における知的機能障害の程度と非常に良い相関性があることが知られている(Annals of Neurology, 30, 572(1991); Annals of Neurology, 39, 355(1989); Annals of Neurology, 27, 457(1990))。この消失を引き起こす機構は、分子レベルではまだ何もわかっていない。その中で、アルツハイマー病やその他の興奮性アミノ酸毒性、 $\beta$ -アミロイド神経毒性、フリーラジカル障害で、細胞内のカルシウムの動的平衡がくずれていることが報告されていることから(Aging, 1, 17(1989); Neuron, 1, 623(1989); Journal of Neuroscience, 12, 376(1992))、カルシウムの役割が急速に注目されつつある。アルツハイマー病患者の線維芽細胞でも、同様の変化が認められている(Brain Research, 543, 139(1991); New England Journal of Medi-

cine, 312, 1063(1985); Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 83, 2758(1986); Brain Research Bulletin, 21, 825(1988); Neuroscience Letters, 121, 239(1991); Biological Psychiatry, 22, 1079(1987); Brain Research, 565, 42(1991); Journal of Neuroimmunology, 33, 167(1991))。しかしながら、ヒト脳でのカルシウム動的平衡の異常をとらえるのは、カルシウムレベルが死後に変化するために困難であった。

【0005】カルシウム動的平衡が変化することにより、カルシウム依存性中性プロテアーゼ(カルパイン)が影響を受けると考えられる。この酵素は細胞内伝達系の制御に係わっていると考えられている(Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 87, 3705(1990); Cell Structure Function, 15, 1(1990); Biochemistry International, 18, 263(1989))。このカルパインによる限定分解は、他の重要な酵素、例えばカルシウム依存性タンパクリン酸化酵素、タンパク脱リン酸酵素、神経伝達物質関連酵素の制御、および膜構成タンパクや膜骨格タンパクの機能の制御に係わっていることが示唆されている(Annals of the New York Academy of Sciences, 568, 198(1989))。従って、カルパインの異常な活性化は様々な代謝経路を介して重大な影響を与えるものと考えられる。虚血時に起こるカルパインの急激な活性化は、急性神経細胞死を引き起こす一方(Journal of Neuroscience, 9, 1579(1989); Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 88, 7233(1991))、持続的な低レベルでの活性化は、タンパクのリン酸化やタンパク代謝回転に対してゆっくりとした、しかし進行性の影響を与えるものと考えられる。例えば、アミロイド前駆体(APP)のプロセッシングや(Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 87, 6003(1991); Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 89, 3055(1992))、細胞骨格タンパクの異常なリン酸化(Annals of the New York Academy of Sciences, 568, 198(1989); Archives of Neurology, 42, 1097(1985))に関与している。カルパインの活性化というのは、細胞内カルシウムの動的平衡を反映するだけでなく、細胞内カルシウムの増加に伴う神経変性という現象を直接反映し得るので、カルパインの活性変化を示すということはアルツハイマー病の病因や治療に重要な情報を与えるものと考えられた。

【0006】カルパインには2つのアイソザイム、カルパインIとカルパインIIが存在することが知られている。これらはそれぞれ、活性化するに際し $\mu M$ および $mM$ レベルのカルシウム濃度を必要とする。両カルパインは、不活性前駆体として主に細胞内に存在する(Cell Structure and Function, 15, 1(1990); FEB Letters, 220, 271(1987))。そしてそ

れは、カルシウム存在下でアミノ基側の自己消化プロセスにより活性化体となる(*Journal of Biochemistry*, 90, 1787(1981); *Journal of Biochemistry*, 98, 407(1985); *Biochimica et Biophysica Acta*, 1078, 192(1991))。

【0007】生体内のカルパインの作用をin vitroの酵素活性測定でモニターすることは困難である。それは、活性を測定する過程で前駆体は活性化されるからである。すなわち、観測される酵素活性は、酵素の不安定さや様々な細胞質内抑制因子あるいは活性化因子によって影響される(*Intracellular Calcium-dependent Proteolysis*(CRCプレス, ボストン, MA), 1(1990))。

【0008】カルパインの抗体を用いた研究で、カルパインが老人斑や神経原線維変化部位に存在することを明らかにし(*Brain Research*, 558, 105(1991); *Brain Research*, 561, 177(1991))。カルパインがアルツハイマー病に特有な病理学的構造形成に関与することが示唆されているが、直接カルパイン活性を測定した結果ではアルツハイマー病患者と正常人との間では顕著な差は認められていなかった(*Biomedical Research*, 10, 17(1989); *Journal of Neurological Science*, 102, 220(1991); *Neurobiology of Aging*, 11, 425(1990))。

#### 【課題を解決するための手段】

【0009】本発明者らは、ヒト死後の脳のカルパインIのそれぞれのアイソフォーム量に着目した。それらは、血小板や赤血球で報告されている活性型と前駆体に対応する(*Biochemical Journal*, 246, 481(1987); *Biochemical Journal*, 261, 1039(1989))。すなわち、生体内で整理的カルシウムレベルでタンパク質が分解するためにはカルパインIの自己消化が必要であるので(*Biochimica et Biophysica Acta*, 1094, 249(1991))、組織内でのこの酵素の前駆体と活性化体との比というのは、生体内でのカルパインI機能の指標となると考えたからである。その結果、アルツハイマー病患者の脳内ではかかるカルパインIの活性化体が増加していることを見出し、本発明を完成するに到った。

【0010】即ち本発明の要旨は、カルパインに対し阻害作用を有する物質を有効成分とするアルツハイマー病の予防または治療薬に存する。以下、本発明につき詳細に説明する。

【0011】本発明者らは、まず活性化されたカルパインIが、アルツハイマー病患者の脳内において正常人\*

\*に比べて増加していることを確認した。その方法を以下に示す。

【0012】ヒトの死後の脳から、カルパインIを部分精製する。この画分を電気泳動にかけ、ヒトカルパインIに対するモノクローナル抗体(*Biochemical Journal*, 246, 481(1987); *Biochemical Journal*, 261, 1039(1989))と反応させると、3つのバンドが認められる。これらの分子量はそれぞれ80KDa、78KDaそして76KDaであり、ヒト赤血球のそれを同一である(*Biochemical Journal*, 246, 481(1987); *Biochemical Journal*, 261, 1039(1989))。ヒト赤血球のカルパインIをカルシウム存在下でインキュベートすると、80KDaのバンドが消失し、76KDaのバンドが出現する。この反応は、カルパインの阻害剤であるロイペプチドで拮抗される。また、76KDaのタンパクの量と酵素活性の間にには、良い相関が認められる。従って、カルパインIの80KDaのバンドは不活性型(前駆体)で76KDaのバンドは活性型であると考えられる。これは、ヒト死後の脳スライス標本を用いても、カルシウム存在下で80KDaから76KDaへの移行が認められる。

【0013】この活性化体と前駆体との比率をアルツハイマー病患者脳部位で調べてみると、後述の実施例に示すように、大脳皮質前頭部、被殻、小脳のいずれにおいても活性化体量が増加していることが確認された。この事実は、カルパインIの活性化体の増加が単なる神経細胞死による2次的結果ではなく、細胞死に先んじて起こる現象であり、この現象が細胞死を引き起こす引き金になっているものと考えられる。

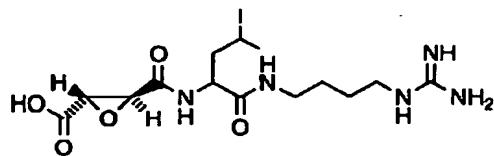
【0014】よって、カルパインIの前駆体から活性化体への移行を阻害する薬物は、アルツハイマー病における細胞死あるいはアミロイド蓄積を防止し、アルツハイマー病の進行抑制あるいは予防に有効であると考えられる。

【0015】本発明で用いることができるカルパイン阻害剤としては、例えばE-64(*Agricultural and Biological Chemistry*, 42巻, 529ページ, 1978年)、E-64-c(*Journal of Biochemistry*, 90巻, 255ページ, 1981年)、E-64-d(*Journal of Biochemistry*, 93巻, 1305ページ, 1983年)、NCO-700(日本公開特許公報昭58-126879)、エスタチンA, B(*The Journal of Antibiotics*, 42巻, 1362ページ, 1989年)等のエポキシコハク酸誘導:

【化1】

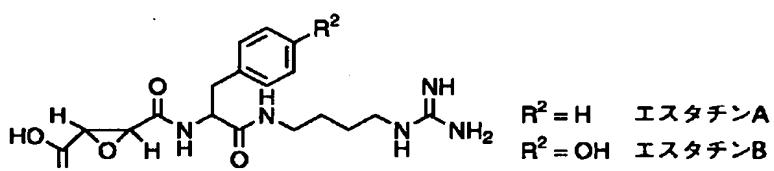
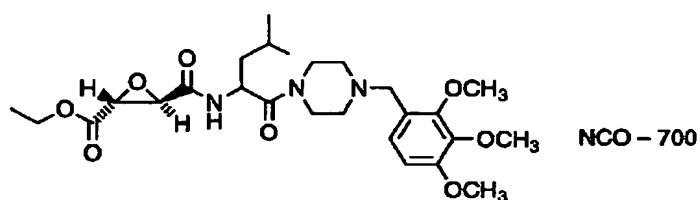
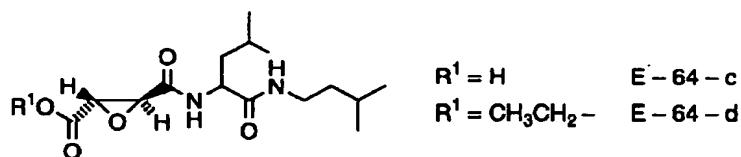
(4)

5



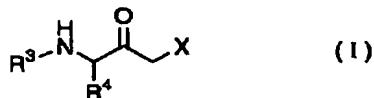
E-64

6



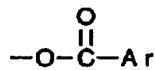
ペプチジル フルオロメチルケトン誘導体 (Journal of Medicinal Chemistry, 35巻, 216ページ, 1992年)、ペプチジル クロロメチルケトン誘導体 (Journal of Biochemistry, 99巻, 173ページ, 1986年)、下記一般式(I)で表されるペプチジル アシリオキシメチルケトン誘導体 (Biochemistry, 30巻, 4678ページ, 1991年) :

## 【化2】



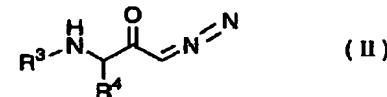
(上記一般式(I)において、 $R^3$ はN末端に置換基を有していてもよいアミノ酸残基もしくはペプチド残基を表し、 $R^4$ はアミノ酸の側鎖を形成する基を表わし、Xはフッ素原子、塩素原子または以下の式で表される基 :

## 【化3】



\* (Ar)は置換基を有していてもよいフェニル基を表わす)を表わす。)、下記一般式(II)で表されるペプチジルジアゾメチルケトン誘導体 (Biochemical Journal, 253巻, 751ページ, 1988年) :

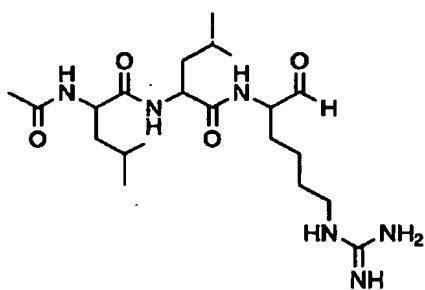
## 【化4】



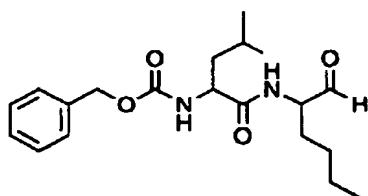
30

(上記一般式(II)において、 $R^3$ および $R^4$ は既に上記一般式(I)において定義したとおりである。)、ロイペプチジン (The Journal of Antibiotics, 22巻, 183ページ, 1969年)、カルペプチジン (Journal of Enzyme Inhibition, 3巻, 195ページ, 1990年)、MDL 28170 (Biochemical and Biophysical Research Communication, 157巻, 1117ページ, 1988年)等のペプチジルアルデヒド誘導体 :

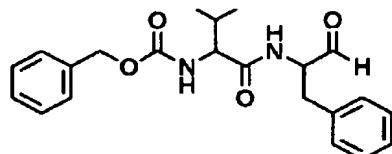
\* 40 【化5】



ロイペプチド



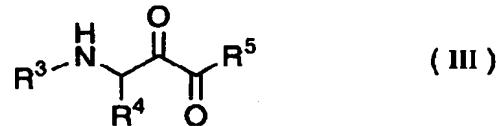
カルペプチド



MDL 28170

ペプチジル  $\alpha$ -ジケトン、ペプチジル  $\alpha$ -ケトエス  
テル誘導体 (Journal of Medicinal Chemistry, 3  
3巻, 11ページ, 1990年):

## 【化6】



(上記一般式(III)において、R<sup>3</sup>およびR<sup>4</sup>は既に定義したとおりであり、R<sup>5</sup>はアルキル基またはアルコキシ基を表わす。)。

【0016】ヒト脳のカルパスタチン(米国特許出願200,141)あるいはその誘導体等のペプチド化合物などが挙げられる。上記の化合物の製造は、上記文献に記載の方法により、容易に行なうことができる。

【0017】かかる化合物を臨床に応用するに際し、治療上有効な成分の担体成分に対する割合は、1重量%から90重量%の間で変動されうる。例えば前記化合物は顆粒剤、細粒剤、散剤、錠剤、硬カプセル剤、軟カプセル剤、シロップ剤、乳剤、懸濁剤又は液剤等の剤形にして経口投与してもよいし、注射剤として静脈内投与、筋肉内投与、皮下投与、髄液内投与、又は脳室内投与してもよい。また、坐剤として用いることもできる。また、注射用の粉末にして用時調製して使用してもよい。経口、経腸、非経口に適した医薬用の有機又は無機の、固体又は液体の担体若しくは希釈剤を本発明薬剤を調製するためには用いることができる。固形製剤を製造する際に

\*用いられる賦形剤としては、例えば乳糖、庶糖、デンプン、タルク、セルロース、デキストリン、カオリン、炭酸カルシウム等が用いられる。経口投与のための液体製剤、即ち、乳剤、シロップ剤、懸濁剤、液剤等は、一般的に用いられる不活性な希釈剤、例えば水又は植物油等を含む。この製剤は、不活性な希釈剤以外に補助剤、例えば潤滑剤、懸濁補助剤、甘味剤、芳香剤、着色剤又は保存剤等を含むことができる。液体製剤にしてゼラチンのような吸収されうる物質のカプセル中に含まれてもよい。非経口投与の製剤、即ち、注射剤、坐剤等の製造に用いられる溶剤又は懸濁化剤としては、例えば水、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、ベンジルアルコール、オレイン酸エチル、レシチン等が挙げられる。坐剤に用いられる基剤としては、例えばカカオ脂、乳化カカオ脂、ラウリン脂、ウイティップゾール等が挙げられる。製剤の調製方法は常法によればよい。

【0018】臨床投与量は、経口投与により用いられる場合には、成人に対し化合物として、一般には、1日量0.01~1000mgであるが、年令、病態、症状により適宜増減することが更に好ましい。前記1日量の本発明薬剤は、1日に1回、又は適当な間隔をもつて1日に2若しくは3回に分けて投与してもよいし、間欠投与してもよい。

【0019】また、注射剤として用いる場合には、成人に対し化合物として、1回量0.001~100mgを連続投与又は間欠投与することが望ましい。

## 【実施例】

【0020】以下、本発明につき実施例を挙げて詳細に

説明するが、その要旨を越えない限り以下に限定されるものではない。

**実施例1 (アルツハイマー病患者脳内におけるカルパインの測定)**

ヒト死後の脳約0.5gをとり、10倍量の20mM Tris-HCl(pH 7.4)、2mM EGTA、1mM EDTA、1mM benzamidine、1mM dithiothreitol、1mM phenylmethylsulfonylfluoride(PMS F)および0.32M sucrose(以下、「バッファーA」と略記する)にてホモジナイズし、これを遠心分離した(15,000×g、30分間、4°C)。上清をDEAE-celluloseカラム(DE-52, Whatman: 1.0×1.5cm)にかけ、KCl濃度を0から3mMへ上げていきながら各フラクションを集め。0.15M KClで溶出してくる画分を電気泳動にかけ、PVDF膜(Immobilin-P, Millipore)に転写する。これにモノクローナルカルパインI抗体(Biochemical Journal, 246, 481 (1987); Biochemical Journal, 261, 1039 (1989))を反応させ、Journal of Neurochemistry, 92, 526 (1992)に記載の方法に準じて解析した。

【0021】その結果、ヒト脳抽出液では80kDa、78kDaおよび76kDaの3つのバンドが検出され、それはヒト赤血球のそれと同一であった(Biochemical Journal, 246, 481 (1987); Biochemical Journal, 261, 1039 (1989))。ヒト赤血球カルパインIをin vitroでカルシウムを加えることにより活性化させると、80kDa isoformのN末端側で切断され、78kDaのisoformとGly<sup>26</sup>-Leu<sup>27</sup>の部分で切断される76kDaのisoformができた(切断部位は、自己消化により生成された76kDaのisoformをSDS-PAGEで分離し、PVDF膜に転写して、これをEdman分解法によりN末端からアミノ酸分析を行うことによって同定した)。80kDaのisoformから76kDaのisoformへの移行は、30秒内に確認された。酵素活性は80kDaのisoformが消失されてからも維持されており、76kDaのisoform量と良い相関が認められた。これは、76kDaのisoformが酵素的に活性であるという報告と一致した(Biochemical and Biophysical Research Communication, 123, 331 (1984); Biochemical and Biophysical Research Communication, 138, 638 (1986))。

【0022】ヒト脳カルパインIは、抽出した後ではかなり不安定であるが、大脳皮質切片をカルシウムとインキュベートすると、80kDaのisoformから76kDaのisoformへの移行を認めることができた。これは、Imajoh et alの報告(Biochemistry, 27, 8122 (1988))による配列に従い、Journal of Neurochemistry, 47, 1039 (1986)に記載の方法に準じてN末端34個のアミノ酸からなる合成ペプチドを作成し、このペプチドに対するポリクローナル抗体を用いる

ことにより、カルパインIの自己消化はN末端が消失することにより引き起こされることを確認した。

【0023】アルツハイマー病脳内でのカルパインIの活性化の程度を定量するために、Immunoassay法(Journal of Neurochemistry, 92, 526 (1992))により3つのisoformを定量した。対照群としては、臨床上神経疾患のない患者を、アルツハイマー病群としては生前痴呆の診断を受け、神經病理学的にアルツハイマー病の特徴を持った患者を選択した(Archives of Neurology, 42, 1097 (1985); Neurology, 41, 479 (1991))。アルツハイマー群(N=22)と対照群(N=17)は、死亡時の年令がそれぞれ75.8±2.0才、68.9分±2.6才で、死後脳サンプルを凍結するまでの時間(死後時間)は12.2±1.3時間と12.0±1.8時間であった。

【0024】細胞質内の80kDaカルパインIの量は、対照群に比してアルツハイマー群の方がかなり低かった(対照群は22.7±1.5%、アルツハイマー群は37.2±2.2%。p<0.001)。対応のないt検定による)。一方、自己消化により活性化された76kDaのカルパインIは、アルツハイマー群の方が対照群に比べてかなり多かった(アルツハイマー群は41.2±1.6%、対照群は26.6±2.2%。p<0.001)。また78kDaのカルパインIには変化が見られなかった。

【0025】次に、個々の脳サンプルについて80kDaカルパインIに対する76kDaのカルパインIの比率を求めるに、アルツハイマー群の方が対照群に比べて約3倍高いことが確認された(アルツハイマー群は2.20±0.39、対照群は0.81±0.10。p<0.005)。図1a参照)。3つのカルパインI isoformの合計量は、いずれのサンプルにおいても変化はなかった。

【0026】統いて、カルパインIの細胞内分布について検討した。大脳皮質前頭部をホモジナイズし、4°Cで30分間、15,000×gで遠心分離して上清を細胞質画分、沈渣を細胞膜画分とした。カルパインIの3つのisoformの量は、前記と同様のImmunoassay法で測定した。その結果、全カルパインIの27~30%が対照群、アルツハイマー群のいずれにおいても膜画分に存在し、そこで各isoformの分布はほぼ同じであったことか

ら、細胞質内のカルパインIのisoformの異常比率は、それらの細胞内分布の移行によるものでないことが確認された。膜画分においては、76kDaのカルパインIが多く存在し(対照群で40.4±1.8%、アルツハイマー群で43.1±1.7%)。両者ともN=9)、80kDaのカルパインIは少なかった(対照群で18.2±1.3%、アルツハイマー群で17.5±1.3%、両者ともN=9)。この結果は、カルパインIが膜上で主に活性化されるという仮説と一致していた(Journal of the Biological Chemistry, 264, 18838 (1999); Biochemical and Biophysical Research C

11

ommunication, 128, 331 (1985))。アルツハイマー病患者脳におけるカルパイン I の異常な活性化度合は、死後時間にかかわらず一定していた。76 KDa と 80 KDa カルパイン I の比率と死後時間との相関性を調べたところ、対照群では  $r = 0.355$ 、アルツハイマー群では  $r = 0.155$ 、両者合わせた群でも  $r = 0.148$  であり、有意な相関性は全くなかった。またカルパイン I の活性化度合は、死亡時年令との間にも何ら有意な相関性は認められなかった。

【0027】アルツハイマー病患者の新皮質部位ではかなりの神経が変性していることが確認されているので、神経変性が少ないかあるいは認められない部位 (Nuerology, 30, 820 (1980); The Neurobiology of Aging, 51 (1983)) におけるカルパイン I の活性化の程度を調べた。80 KDa のカルパイン I に対する 76 KDa のカルパイン I の比率は、アルツハイマー病患者の被殻 (4.6%,  $p < 0.005$ ) および小脳 (5.8%,  $p < 0.005$ ) の両部位で対照群に比して有意に増加していた (図 1b および c 参照)。一方、ハンチントン病 (ステージ III) 患者の大脳皮質前頭部および小脳においては、カルパイン I の isoform の分布は正常であった (図 1a および c 参照)。しかしハンチントン病で神経細胞死が認められている被殻 (Journal of Neuropathology and Experimental Neurology, 44, 559 (1

E-64  
NCO-700  
ロイペプチド  
カルペプチド  
MDL28170

#### 【0030】試験例2 急性毒性試験

文献記載の急性毒性試験結果を以下に記す。

(1) E-64, E-64-c, E-64-d (特公平4-4号公報)

マウスにおいていずれも  $LD_{50} > 2000 \text{ mg/kg} \cdot \text{po}$

(2) NCO-700 (特開昭58-126879号公報)

マウスにおいて  $LD_{50} = 374 \text{ mg/kg} \cdot \text{iv}$

(3) エスタチン A, B (特開昭62-76号公報)

マウスにおいて  $LD_{50} > 400 \text{ mg/kg} \cdot \text{i.p.}$

#### 【0031】製剤例

##### (1) 錠剤

下記成分を常法に従って混合し、慣用の装置により打錠した。

E-64	3.0 mg
結晶セルロース	6.0 mg
コーンスターク	1.00 mg
乳糖	2.00 mg
ステアリン酸マグネシウム	4 mg

##### 【0032】(2) 顆粒剤

下記成分を常法に従って混合し、慣用の装置により打錠

\*

12

\* 985); Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry, 48, 422 (1985) では、50% ( $p < 0.05$ ) カルパイン I 活性化体の比率が増加していた (図 1b 参照)。

【0028】アルツハイマー病新皮質で多大のカルパイン I の活性化体の増加および神経変性の少ない部位でも認められた同様の結果から、このカルパイン I の活性化が単なる神経細胞変性の末期における結果を反映しているのではなく、細胞死に先立って起き、そしておそらく細胞死に直接関与するより広範囲にわたる代謝的変化を反映しているものと考えられる。

#### 【0029】試験例1 カルパイン阻害活性

文献記載の方法 (Journal of Biological Chemistry, 259巻, 3210ページ, 1984年) によりラットの脳から精製した m-カルパインを用いて、文献記載の方法 (Journal of Biological Chemistry, 259巻, 12489ページ, 1984年) に準じてその阻害活性を測定した。ただし、NCO-700 (Arzneimittel Forschung/Drug Research, 36巻, 190ページ, 1986年) および MDL28170 (Biochemical and Biophysical Research Communications, 157巻, 117ページ, 1988年) に関しては、文献記載値を記した。

\*

#### カルパイン阻害活性

$I C_{50} = 0.96 \mu M$
$I C_{50} = 4.6 \mu M$
$I C_{50} = 0.36 \mu M$
$I C_{50} = 0.046 \mu M$
$K_i = 0.007 \mu M$

※した後、粉碎し、整粒し、20~50 メッシュの粒子を選別して顆粒剤を得た。

E-64	1.0 g
乳糖	2.0 g

ステアリン酸マグネシウム	1 g
--------------	-----

#### 【0033】(3) 軟カプセル剤

下記成分を常法に従って混合し、軟カプセルに充填した。

E-64	3.0 g
オリーブ油	3.00 g
レチシン	2.0 g

#### 【0034】(4) 注射剤

卵黄レシチン 2.0 mg 及び E-64 3 mg をクロロホルムに完全に溶解した後、凍結乾燥により完全にクロロホルムを留去した。次に注射用蒸留水 2 ml を加えて、2 ml 入のアンプルを調製した。

#### 【0035】(5) 坐剤

ウイテップゾール 2 g の加温融解物に E-64 3.0 mg を加えてよく混合し、これを直腸坐剤用金型に注入し、冷却して坐剤を得た。

※50

13

【0036】(6)上記(1)～(5)の製剤化においてE-64のかわりにロイペプチドおよびカルペプチドを用いてそれぞれ同様の操作を行ない、錠剤、顆粒剤、軟カプセル剤、注射剤、坐剤を得た。

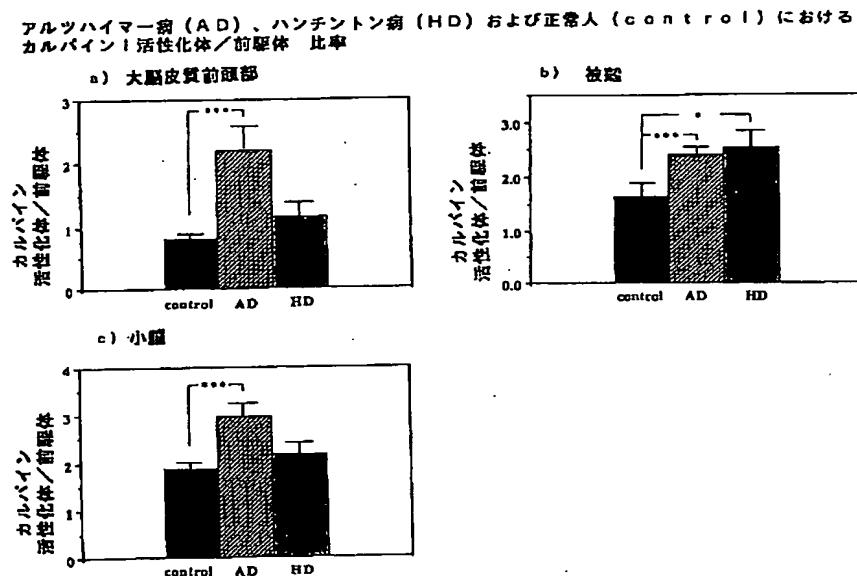
【図面の簡単な説明】

【図1】 図1は、アルツハイマー病(AD)、ハンチントン病(HD)、正常人(control)におけるカルバインI活性化体/前駆体比率

14

\* トントン病(HD)および正常人(control)の脳内におけるカルバインI前駆体に対するカルバインI、活性化体の比率を表わした図面である。図中、a)は大脳皮質前頭部における比率を、b)は被殻における比率を、c)は小脳における比率をそれぞれ表わす。

【図1】



フロントページの続き

(72)発明者 ラルフ・エイ・ニクソン

アメリカ合衆国02174マサチューセッツ州  
アーリントン、ブリザント・ストリート  
164番